

No.	22-2053	
研究課題名	慢性好中球性白血病の病型移行と急性転化に関する原因遺伝子の探索	
研究代表者	大島 渚（千葉大学医学部附属病院・助教）	
研究組織	受入教員	南谷 泰仁（東京大学医科学研究所・教授）
	分担者	武藤 朋也（千葉大学医学部附属病院 血液内科・助教）
	分担者	塚本 祥吉（千葉大学医学部附属病院 血液内科・特任助教）
	分担者	竹田 勇輔（千葉大学医学部附属病院 血液内科・助教）
	分担者	三村 尚也（千葉大学医学部附属病院 輸血・細胞治療部・講師）
	分担者	堺田 恵美子（千葉大学大学院医学研究院 内分泌代謝・血液・老年内科学・准教授）
	分担者	鎌田 百合（千葉大学医学部附属病院 血液内科・医員）
	分担者	南谷 泰仁（血液腫瘍内科・教授）
	分担者	横山 和明（血液腫瘍内科・助教）
	分担者	岩間 厚志（幹細胞治療研究センター幹細胞分子医学分野・教授）
	分担者	大島 渚（千葉大学医学部附属病院 輸血・細胞治療部・助教）

東京大学医科学研究所国際共同利用・共同研究拠点事業
共同研究報告書 (年次終了・研究完了)【国内】

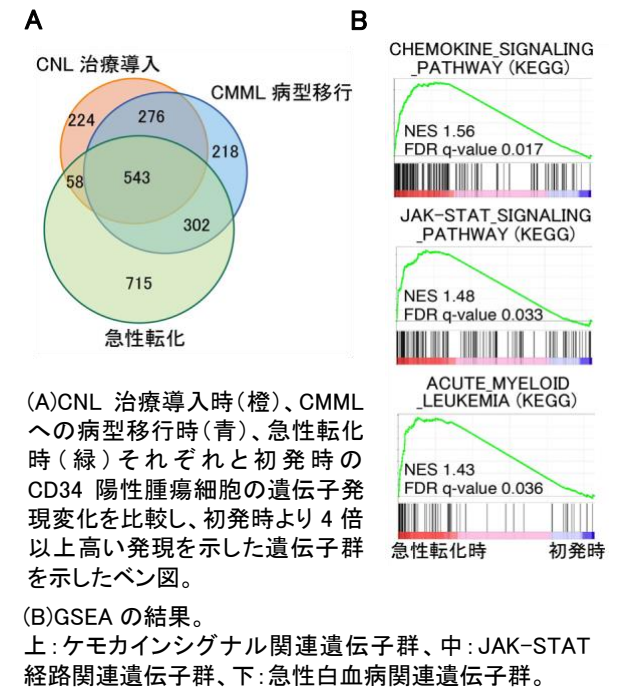
共同研究報告 (年次終了)

慢性好中球性白血病(CNL)から病型移行した当科症例の各疾患段階の網羅的遺伝子解析

当施設で経験した、CNLから他の骨髄増殖性疾患(MPN)の一つである慢性単球性白血病(CMML)へ病型移行し、さらに急性骨髄性白血病へと病型移行(急性転化)した症例の単核球と、コントロール

としてCD3陽性細胞をFACSソーティングで分離、それぞれDNAを抽出し、全exonシーケンスを行い、病態変化時に認められた遺伝子変異を同定した。また、各疾患段階の検体のCD34陽性腫瘍細胞をやはりFACSソーティングで分離し、RNAシーケンスを行った。当施設で経験したCNLの急性転化症例の全exonシーケンス解析を進め、初発時より全経過を通して存在する遺伝子変異*ASXL1*と、急性転化時に認められる遺伝子変異*PTPN11*を同定している。*PTPN11*はRAS/MAPKシグナル経路を活性化させるタンパクであるSHP-2をコードし、急性白血病の病態形成に関わることが知られる。また、各検体のCD34陽性腫瘍細胞をFACSでソーティングし、RNAシーケンスを実施したところ、初発時と比較して急性転化時には、715遺伝子の発現が4倍以上増加していた(図A)。Gene Set Enrichment Analysis(GSEA)の結果、ケモカインシグナル、JAK-STAT経路、急性白血病に関連する遺伝子セットスコアが上昇していた(図B)。全exonシーケンスとRNAシーケンスの結果を併せて解析し、病型移行や急性転化に関わる原因遺伝子を検索した結果、*PTPN11*変異と遺伝子発現プロファイルの変化がCNLの病型移行、急性転化を含む病態形成機構の一端を担っている可能性が考えられた。現在これらの遺伝子変異を細胞株に導入する目的でCRISPR-Cas9 gRNAの作成を開始し、細胞株の培養条件の検討等も行っている。

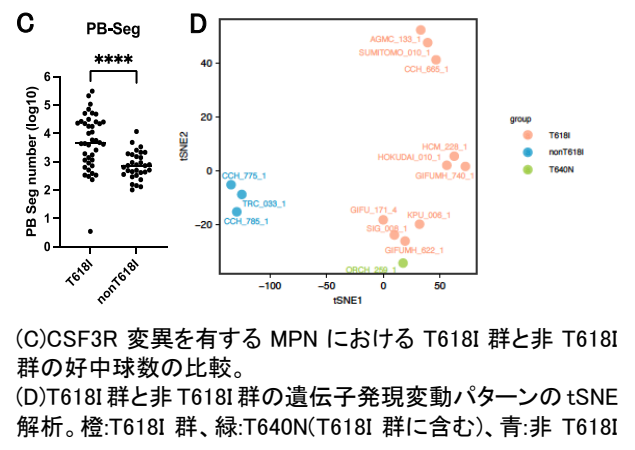
図A: Venn図による遺伝子発現変化の解析。CNL治療導入(オレンジ)、CMML病型移行(青)、急性転化(緑)の各段階で発現が4倍以上増加した遺伝子の数を示す。急性転化時に715遺伝子の発現が4倍以上増加した。



多数例のCNLを含むMPN症例の網羅的解析

東京大学医科学研究所血液腫瘍内科コホートおよび共同研究を行っている京都大学コホートより多数例のMPN(現在CNL6例)の全exonシーケンスとRNAシーケンスを行い、網羅的遺伝子変異・発現を併せて解析し、CNLにおいて最も高頻度に報告されている*CSF3R*変異と、それ以外の変異の組み合わせ

による臨床像、病型・予後の相違を探索している。同じ*CSF3R*変異でもT618Iを有する群では他の変異と比較して好中球数が著明に増多している傾向があり(図C)、臨床像にも差があることがわかった。全exonシーケンスの結果、T618I群では特異的に*CEBPA*遺伝子変異が共存することがわかり、またRNAシーケンスの結果も2群で明確な差が認められた(図D)。今後はこれらの情報が病態に及ぼす影響についてさらに検討を重ねていく方針である。



(C) *CSF3R* 変異を有する MPN における T618I 群と非 T618I 群の好中球数の比較。
(D) T618I 群と非 T618I 群の遺伝子発現変動パターンの tSNE 解析。橙:T618I 群、緑:T640N(T618I 群に含む)、青:非 T618I